

**Untersuchungen über das Vorkommen von Antikörpern
gegenüber bovinem Respiratory Syncytial-Virus
bei Rindern in Bayern**

Hermann Niemeyer

1976

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie,
Infektions- und Seuchenmedizin
des Fachbereichs Tiermedizin der Universität München

Vorstand: Prof. Dr. Dr. h. c. A. Mayr

Angefertigt unter Leitung von Priv. Doz. Dr. G. Witzigmann

Untersuchungen über das Vorkommen von Antikörpern
gegenüber bovinem Respiratory Syncytial - Virus
bei Rindern in Bayern

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Hermann Niemeyer

aus Barßel

München 1976



Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Tiermedizin der Universität
München

Dekan: Prof. Dr. B. Vollmerhaus
Referent: Priv.Doiz. Dr. G. Wizigmann
Korreferent: Prof. Dr. G. Dirksen

Tag der Promotion: 30. Juli 1976

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1 EINLEITUNG	1
2 SCHRIFTTUM	2
2.1 <u>Begriffsbestimmung</u>	2
2.2 <u>Charakterisierung des Respiratory Syncytial-Virus</u>	2
2.2.1 Struktur, Morphogenese und chemisch-physikalische Eigenschaften des RS-Virus	2
2.2.2 Biologische Eigenschaften des RS-Virus	6
2.2.2.1 Zellspektrum	6
2.2.2.2 Virusvermehrung in der Zellkultur	7
2.2.2.3 Antigenität	8
2.3 <u>Epidemiologie des Respiratory Syncytial-Virus</u>	10
2.3.1 Vorkommen und Verbreitung	11
2.3.1.1 RS-Virus des Menschen	11
2.3.1.2 RS-Virus des Rindes	12
2.3.1.3 RS-Virus anderer Species	12
2.3.2 Ausscheidung des RS-Virus	13
2.3.3 Übertragung des RS-Virus	14
2.3.4 Aufnahme des RS-Virus	14
2.3.5 Wirtsspektrum und Infektketten	15
2.4 <u>Das bovine Respiratory Syncytial-Virus</u>	18
2.4.1 Vorkommen und Verbreitung	18
2.4.2 Beziehungen zwischen Infektion und Krankheit	21
2.4.2.1 Natürliche Infektion	21
2.4.2.2 Experimentelle Infektion	22
2.4.2.3 Antikörper und Immunität	25

	Seite
3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN	28
3.1 <u>Material und Methoden</u>	28
3.1.1 Zellkulturen	28
3.1.2 Virusmaterial	29
3.1.2.1 Viruszüchtung und Virusernte	29
3.1.2.2 Virustitrationen	30
3.1.3 Seren	30
3.1.3.1 Zahl, Alter und Herkunft der untersuchten Tiere	30
3.1.3.2 Kontrollseren	32
3.1.3.2.1 Anti-RS-Virus- Immunseren	32
3.1.3.2.2 Negative Kontroll- seren	32
3.1.3.3 Behandlung der Seren	32
3.1.4 Neutralisationstest	33
3.2 <u>Untersuchungen und Ergebnisse</u>	33
3.2.1 Untersuchungen zur Spezifität des Neutralisationstestes mit bovinem RS-Virus	33
3.2.1.1 Vorkommen von neutralisieren- den Antikörpern gegenüber bo- vinem RS-Virus in fetalen Rin- derseren	34
3.2.1.2 Vorkommen von neutralisieren- den Antikörpern in Kaninchen vor und nach der parenteralen Applikation von bovinem RS-Virus	34
3.2.2 Untersuchungen über das Vorkommen von neutralisierenden Antikörpern gegen- über bovinem RS-Virus in Kälber- und Rinderseren	34
3.2.2.1 Allgemeiner Überblick	34
3.2.2.2 Aufschlüsselung der Ergeb- nisse unter besonderer Be- rücksichtigung des Alters der untersuchten Tiere	35
4 BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	38
5 ZUSAMMENFASSUNG	42
6 LITERATURVERZEICHNIS	44

1 EINLEITUNG

Das Respiratory Syncytial-Virus wurde erstmals 1956 von Schimpansen, ein Jahr später von Menschen isoliert. In der darauffolgenden Zeit erkannte man die Bedeutung dieses Erregers für ansteckende respiratorische Erkrankungen des Menschen und untersuchte seine Verbreitung unter der Bevölkerung in den Vereinigten Staaten und in Europa.

Besonders gefürchtet ist das Respiratory Syncytial-Virus bei Kindern und Kleinkindern in Kliniken und Heimen, da es alljährlich in der kalten Jahreszeit auftretende Epidemien verursacht.

Seit 1970 wird über Isolierungen eines Respiratory Syncytial-Virus bei Rindern berichtet. Serologische Untersuchungen aus den Vereinigten Staaten, aus Japan, Belgien und der Schweiz bestätigen eine weite Verbreitung der Infektion unter der Rinderpopulation.

Die Rolle des Respiratory Syncytial-Virus bei der Entstehung respiratorischer Erkrankungen des Rindes ist noch unzureichend untersucht, seine Bedeutung beim Zustandekommen "infektiöser Faktorenerkrankungen" wird diskutiert.

Da bislang über Infektionen mit Respiratory Syncytial-Virus bei Rindern nur aus dem Ausland berichtet wurde, war es Aufgabe vorliegender Arbeit, durch serologische Untersuchungen die Verbreitung dieser Infektion in Bayern zu überprüfen.

2.1 Begriffsbestimmung

Erstmals ist das Virus von MORRIS, BLOUNT und SAVAGE (1956) aus einem Schimpansen isoliert und zunächst als "chimpanzee coryza agent" (CCA) bezeichnet worden. Im folgenden Jahr isolierten CHANOCK, ROIZMAN und MYERS ein mit dem CCA identisches Virus aus Rachenabstrichen von Kindern (CHANOCK, ROIZMAN und MYERS, 1957).

Auf Grund seines Verhaltens in Zellkulturen, bei dem die Bildung von Syncytien besonders auffiel, wurde für das Virus die Bezeichnung "Respiratory Syncytial-(RS-) Virus" gewählt (BEEM, WRIGHT, HAMRE, EGERER und OEHME, 1960; CHANOCK, KIM, VARGOSKO, DELEVA, JOHNSON, CUMMING und PARROTT, 1961; GERNEZ-RIEUX, BRETON, SAMILLE, GONDIER, LE FEBORE und LELONG, 1963; PARROTT, 1963).

Die Isolierung eines bovinen RS-Virus gelang im Jahre 1967 erstmals PACCAUD und JAQUIER (1970).

Nach der neuen Nomenklatur faßt man das RS-Virus des Menschen, des Affen und des Rindes mit dem Pneumonie-Virus der Maus in der Familie der "M e t a m y x o v i - r e n" zusammen (MELNICK, 1971; ITO, TANAKA, INABA und OMORI, 1973; BERTHIAUME, JONCAS und PAVILANIS, 1974).

2.2 Charakterisierung des Respiratory Syncytial-Virus

2.2.1 Struktur, Morphogenese und chemisch-physikalische Eigenschaften des RS-Virus

Das RS-Virus besteht aus einer inneren, helikalen Komponente, dem Nukleokapsid und einer äußeren Hülle (ZAKSTELSKAYA, ALMEIDA und BRADSTREET, 1967).

Das Nukleokapsid enthält Ribonukleinsäure und Protein, erstere mit einem Anteil von etwa 5 % (BUSSELL, WATERS und SEALS, 1974). Die RNS liegt einsträngig vor (BLOTH und NORRBY, 1967; BUSSELL, WATERS und SEALS, 1974; ITO, TANAKA, INABA und OMORI, 1973), und bildet, mit dem Protein als strukturgebende Substanz gekoppelt, eine Helix, die einen Durchmesser von 13,5 nm (BERTHIAUME, JONCAS und PAVILANIS, 1974; ZAKSTELSKAYA, ALMEIDA und BRADSTREET, 1967), nach anderen Angaben 11 - 15 nm (ITO, TANAKA, INABA und OMORI, 1973; NORRBY, MARUSYK und ORVELL, 1970) bzw. 17 - 18 nm (BUSSELL, WATERS und SEALS, 1974) aufweist. Im fertigen Virion gleichsam ein "Knäuel" bildend, liegt sie nach Auflösung der Hülle gestreckt und in zahlreichen Bruchstücken vor.

Die Hülle weist keulenförmige Projektionen auf, die in radiärer Anordnung bei einer Länge von 12 bis 17 nm (BERTHIAUME, JONCAS und PAVILANIS, 1974; BLOTH, ESPMARK, NORRBY und GARD, 1963; ITO, TANAKA, INABA und OMORI, 1973; NORRBY, MARUSYK und ORVELL, 1970; ZAKSTELSKAYA, ALMEIDA und BRADSTREET, 1967) und einer lichten Weite von 4 bis 7 nm (BLOTH, ESPMARK, NORRBY und GARD, 1963; ITO, TANAKA, INABA und OMORI, 1973) im Abstand von 7 bis 10 nm (BERTHIAUME, JONCAS und PAVILANIS, 1974; ITO, TANAKA, INABA und OMORI, 1973) einer Doppelmembran (BLOTH, ESPMARK, NORRBY und GARD, 1963) aufsitzen, welche das Nukleokapsid umschließt. Die aus Lipoproteinen bestehende Hülle ist sehr empfindlich gegen organische Lösungsmittel und zeichnet sich nach der Präparierung im Elektronenmikroskop nur undeutlich und verschwommen ab (BERTHIAUME, JONCAS und PAVILANIS, 1974; HAMPARIAN, HIL-LEMAN und KETLER, 1963; INABA, TANAKA, OMORI und MATUMOTO, 1973; JONCAS, BERTHIAUME und PAVILANIS, 1969).

Bestimmungen des Virusdurchmessers nach Zentrifugierung im Dichtegradienten (CHANOCK, ROIZMAN und MYERS, 1957) und an Gewebeschnitten (ITO, TANAKA, INABA und OMORI, 1973; NORRBY, MARUSYK und ORVELL, 1970) ergaben Werte zwischen 80 und 130 nm.

Auf Negativkontrastbildern gereinigter Virusfraktionen sieht man eine Vielfalt von Formen. Neben kugel- und fadenförmigen Partikeln finden sich zahlreiche Zwischenformen unterschiedlicher Größe. (BERTHIAUME, JONCAS und PAVILANIS, 1974; BLOTH, ESPMARK, NORRBY und GARD, 1963; ITO, TANAKA, INABA und OMORI, 1973; JONCAS, BERTHIAUME, PAVILANIS, 1969; ZAKSTELSKAYA, ALMEIDA und BRADSTREET, 1967)

In Ultradünnschnitten infizierter Zellen sind komplette RS-Viruspartikel nur außerhalb des Zytoplasmas zu finden (BERTHIAUME, JONCAS und PAVILANIS, 1974; ITO, TANAKA, INABA und OMORI, 1973; NORRBY, MARUSYK und ORVELL, 1970). Innerhalb der Zelle, unweit vom Kern, liegen fadenförmige und granuläre Einschlüsse mit einem Durchmesser von etwa 12 nm (BERTHIAUME, JONCAS und PAVILANIS, 1974). Die Reifung der Viren erfolgt an der Zellmembran in Form eines Sprossungsvorganges ("budding-off-process"), bei dem das Plasmalemma knospenförmige Auftreibungen bildet, die nach Ablösung vom Zelleib als freie Virusteilchen zu sehen sind (BÄCHI und HOWE, 1973; BERTHIAUME, JONCAS und PAVILANIS, 1974; ITO, TANAKA, INABA und OMORI, 1973; NORRBY, MARUSYK und ORVELL, 1970).

Für die Dichte des Virions wurden Werte zwischen 1,23 und 1,29 g/cm³ ermittelt (BUSSELL, WATERS und SEALS, 1974; CHANOCK, ROIZMAN und MYERS, 1957; COATES, FORSYTH und CHANOCK, 1966; INABA, TANAKA, OMORI und MATUMOTO, 1973).

Das RS-Virus ist in Lösungen mit niedrigem pH-Wert sehr instabil. Bei einem pH von 3,0 und einer Temperatur von 4°C geht die Infektiosität einer Virussuspension innerhalb einer halben, nach anderen Angaben innerhalb einer Stunde vollständig verloren. Ein pH-Wert von 4,0 führt innerhalb einer halben Stunde bei 4°C zu einem Abfall der Infektiosität um $0,5 \log \text{KID}_{50} / 0,1 \text{ ml}$, nach anderen Untersuchungen innerhalb einer Stunde bei Zimmertemperatur zu deren vollständigen Verlust. PH-Werte zwischen 5,0 und 7,0 haben nur geringe Titerabfälle (unter $0,5 \log \text{KID}_{50} / 0,1 \text{ ml}$) zur Folge. Die größte Stabilität besitzt das RS-Virus bei pH-Werten von 7,2 bis 7,5. (HAMPARIAN, HILLEMANN und KETLER, 1963; HAMBLING, 1964; PACCAUD und JAQUIER, 1970; INABA, TANAKA, OMORI und MATUMOTO, 1973)

Setzt man virushaltige Kulturflüssigkeit einer Temperatur von 56°C aus, so sinkt die Infektiosität um $0,7 \log \text{KID}_{50} / 0,1 \text{ ml}$ in der Minute und geht nach 10 Minuten, anderen Angaben zufolge in einer halben Stunde, vollständig verloren (PACCAUD und JAQUIER, 1970; INABA, TANAKA, OMORI und MATUMOTO, 1973; ROSENQUIST, 1974).

Bei einer Temperatur von 37°C sinkt die Infektiosität einer RS-Virussuspension während der ersten 6 Stunden um etwa $0,4 \log \text{KID}_{50} / 0,1 \text{ ml}$ stündlich und geht nach 24 Stunden bis auf Null, nach einer anderen Untersuchung auf einen Rest von 10 % des Ausgangstiters zurück (HAMBLING, 1964; INABA, TANAKA, OMORI und MATUMOTO, 1973).

Bei 25°C sind nach 48 Stunden noch 10 % der Infektiosität erhalten (HAMBLING, 1964).

Bei einer Temperatur von 4°C sank die Infektiosität virushaltiger Kulturflüssigkeit während eines Monats von $10^{3,5}$ auf $10^2 \text{KID}_{50} / 0,1 \text{ ml}$ ab (INABA, TANAKA, OMORI und MATUMOTO, 1973).

Rasches Einfrieren auf mindestens -70°C ist am besten geeignet, RS-Virussuspensionen zu konservieren (PACCAUD und JAQUIER, 1970).

Nach einmonatiger Lagerung bei -80°C konnte kein Verlust der Infektiosität festgestellt werden (INABA, TANAKA, OMORI und MATUMOTO, 1973).

Unter Zusatz von 44,5 % Saccharose wurden RS-Virussuspensionen 2 Jahre lang bei -70°C ohne signifikanten Infektivitätsverlust gelagert (LAW und HULL, 1968).

Gereinigte, pelletierte RS-Virusfraktionen, die bei -78°C in Trockeneis aufbewahrt wurden, erfuhren durch Auftauen und Wiedereinfrieren keine Änderung ihrer Infektiosität (RECHSTEINER, 1969).

2.2.2 Biologische Eigenschaften des RS-Virus

2.2.2.1 Zellspektrum

Die Zahl der für das RS-Virus des Menschen und des Rindes empfänglichen Zellkulturarten ist sehr groß.

Humanes RS-Virus vermehrt sich in menschlichen Nieren-, Amnion-, Konjunktival-, Intestinal- und Embryofibroblastenzellkulturen, in den permanenten Zelllinien WI-36, WI-38, HEp-2 und HeLa, in primären und sekundären Affennierenzellkulturen und VERO-Zellen, in der BHK-21-Zelllinie sowie in Zellkulturen aus Rinderniere, -hoden, -thymus und -duodenum und in Zellkulturen von der Lunge der Schildkröte *Testudo graeca* (BENNETT und HAMRE, 1962; COATES, KENRICK und CHANOCK, 1963; DREIZIN, PONOMAREVA, RAPORT und PETROVA, 1967; DULBECCO und GINSBERG, 1973; FRIEDEWALD, FORSYTH, SMITH, GHARPURE und CHANOCK, 1968; HOLZEL, PARKER, PATTERSON, WHITE, THOMPSON und TOBIN, 1963; HORNSLETH, 1969; KAPIKIAN, BELL, MASTRODA, JOHNSON, HEUBNER und CHANOCK, 1961; MATUMOTO, INABA, KUROGI, SATO,

OMORI, GOTO und HIROSE, 1974; NORRBY, MARUSYK und ORVELL, 1970; SCHINDAROV, GALABOV, RNEVSKI und WASSILEVA, 1969; SHIGETA, HINUMA, SUTO und ISHIDA, 1968; TYRELL, 1963; UZONOVA, 1970)

Als besonders empfänglich erwiesen sich die HEp-2-Linie und Kulturen aus Affennieren und menschlichen Amnion- und Nierenzellen.

Bovines RS-Virus wurde bislang vor allem in bovinen Zellkulturen gezüchtet. Am häufigsten verwendet wurden primäre und sekundäre Rindernieren- und Rinderlungenzellkulturen (MATUMOTO, INABA, KUROGI, SATO, OMORI, GOTO und HIROSE, 1974; MOHANTY, INGLING und LILLIE, 1975; PACCAUD und JAQUIER, 1970; ROSENQUIST, 1974; SMITH, FREY und DIERKS, 1975; WELLEMANS und LEUNEN, 1971 b). Aber auch die bovinen Nierenzelllinien MDBK und GKB erwiesen sich als empfänglich (SMITH, FREY und DIERKS, 1975).

Außerdem konnte RS-Virus vom Rind in Kulturen boviner Hoden-, Schilddrüsen-, Duodenal- und Rektumzellen, Tracheal-, Aorten- und Milzzellen, in humanen Lungen- und Nierenzellkulturen, HeLa- und HEp-2-Linien, embryonalen Schweinenierenzellkulturen, VERO-Zellen und Kulturen aus Hamsterlunge sowie der BHK 21-WI 2 -Linie vermehrt werden (MATUMOTO, INABA, KUROGI, SATO, OMORI, GOTO und HIROSE, 1974; SMITH, FREY und DIERKS, 1975)

2.2.2.2 Virusvermehrung in der Zellkultur

RS-Virusstämme von Menschen und Rindern erzeugen in Einschichtzellkulturen einen leicht reproduzierbaren zytopathischen Effekt. Die Zellveränderung beginnt mit der Granulation einzelner Zellen und führt über Abkugelung, Schrumpfung und Bildung von Zellaggregaten zur mehr oder

weniger vollständigen Auflösung des Zellrasens. Bei geringer Infektionsdosis kommt es lediglich zur Degeneration umschriebener Bezirke und das Endstadium der Lysis wird auch bei langer Bebrütungszeit nicht erreicht.

Durch Zugabe von Glutamin zum Zellkulturmedium wird der zytopathische Effekt verstärkt (MARQUEZ, HSIUNG, 1967). Maximale Titer von 10^4 bis 10^5 KID₅₀ / 0,1 ml werden je nach Virusstamm, Zellkultur und Wachstumsbedingungen innerhalb von 3 bis 4 Tagen erreicht. (BERTHIAUME, JONCAS, BOULAY und PAVILANIS, 1973; MATUMOTO, INABA, KUROGI, SATO, OMORI, GOTO und HIROSE, 1974; PACCAUD und JAQUIER, 1970; SMITH, FREY und DIERKS, 1975)

Die Färbung infizierter Kulturen mit Hämatoxylin-Eosin oder der May-Grünwald-Giemsa-Technik führt zur Aufdeckung von Plasmaeinschlüssen und Syncytien. Die Einschlusskörperchen sind homogen, acidophil, von unregelmäßiger Gestalt und Größe und sind sowohl in einkernigen als auch in mehrkernigen Zellen anzutreffen. Besonders in Syncytien können sie beachtliche Ausmaße annehmen und einen Großteil des Zellumens ausfüllen. (ARMSTRONG, PEREIRA und VALENTINE, 1962; BENNETT, HAMRE, 1962; CHANOCK, ROIZMAN und MYERS, 1957; PACCAUD und JAQUIER, 1970; ROSENQUIST, 1974)

2.2.2.3 Antigenität

Die von Mensch und Tier isolierten RS-Virusstämme besitzen ein gemeinsames, lösliches, komplementbindendes Gruppenantigen (JACKSON und MULDOON, 1973; PACCAUD und JAQUIER, 1970). Im Neutralisationstest können zwischen Virusstämmen des Menschen und des Rindes Kreuzreaktionen nachgewiesen werden. Bei den dabei auftretenden Unterschieden zwischen einzelnen Stämmen spielt offenbar

die Herkunft der antikörperhaltigen Seren eine Rolle.

COATES, KENRICK und CHANOCK (1963) fanden zwischen zwei von Menschen isolierten Stämmen im Kreuzneutralisationstest mit Frettchenimmunsereen serologische Unterschiede, die jedoch bei Verwendung von Serumpaaren von Kindern nur sehr schwach ausgeprägt waren.

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen DOGGETT und TAYLOR-ROBINSON (1965). Sie untersuchten neun humane RS-Virusstämme auf ihre antigene Verwandtschaft. Von Frettchen gewonnene Antiseren dieser Stämme wurden auf ihre neutralisierende Wirkung gegenüber dem Ausgangsmaterial untersucht. Zwischen allen Virusstämmen wurden im Kreuzneutralisationstest antigene Unterschiede festgestellt. Dabei bestand zwischen einigen Stämmen enge, zwischen anderen weniger enge Verwandtschaft.

Auch WULFF, KIDD und WENNER (1964) stellten im Neutralisationstest mit Kaninchen-, Meerschweinchen- und Affenserum serologische Unterschiede zwischen zwei humanen RS-Virusstämmen fest. Im Komplementbindungstest mit denselben Seren sowie im Neutralisations- und Komplementbindungstest mit 74 Serumpaaren von Menschen waren beide Stämme völlig identisch.

Ein von Affen isolierter Virusstamm erwies sich als identisch mit einem später von Kindern isolierten RS-Virus (CHANOCK, ROIZMAN und MYERS, 1957).

Beim Vergleich von bovinem und humanem RS-Virus im Kreuzneutralisationstest mit Meerschweinchen-Hyperimmunsereen waren die Antikörpertiter der homologen Neutralisationsgemische um das 4 - 32 fache höher als bei den heterologen. Von Rindern stammende Rekonvaleszentenenserum wiesen

im Neutralisationstest gleichhohe Antikörpertiter gegenüber beiden getesteten Stämmen auf. (INABA, TANAKA, OMORI und MATUMOTO, 1970)

Zu gleichsinnigen Ergebnissen führten Untersuchungen von PACCAUD und JAQUIER (1970). Sie untersuchten zwei bovine und einen humanen RS-Virusstamm im Kreuzneutralisationstest gegenüber Meerschweinchen-, Menschen- und Rinderseren. Das Meerschweinchen-Antiserum gegenüber humanem RS-Virus neutralisierte den humanen Stamm achtmal so stark wie den bovinen, das Antiserum gegenüber bovinem RS-Virus wirkte auf beide Stämme gleichstark neutralisierend. Serumpaare von Menschen, die nachweislich an RS-Virus erkrankt waren, wiesen gegenüber allen drei untersuchten Stämmen gleichhohe Anstiege der Titer neutralisierender Antikörper auf, ein Serumpaare von einem Rind reagierte entsprechend. In kreuzweise durchgeführten Komplementbindungstests stimmten die drei untersuchten Stämme fast völlig überein.

Eine Einteilung der bekannten RS-Virusstämme in verschiedene Serotypen oder Varianten wurde bisher nicht vorgenommen.

Einen Hinweis für die Existenz eigenständiger Serotypen geben die Untersuchungsergebnisse von COATES und CHANOCK (1962): sie fanden im Kreuzneutralisationstest mit Kaninchen- und Meerschweinchen-Hyperimmunseren keine Antigenverwandtschaft zwischen 2 von Menschen isolierten RS-Virusstämmen.

2.3 Epidemiologie des Respiratory Syncytial-Virus

Das Respiratory Syncytial-Virus konnte bislang von Affen, Menschen und Rindern isoliert werden (MORRIS, BLOUNT und

SAVAGE, 1956; CHANOCK, ROIZMAN und MYERS, 1957; BEEM, WRIGHT, HAMRE, EGERER und OEHME, 1960; COATES, KENRICK und CHANOCK, 1963; HOLZEL, PARKER, PATTERSON, WHITE, THOMPSON und TOBIN, 1963; SOMMERVILLE, 1963; GERNEZ-RIEUX, BRETON, SAMILLE, GONDIER, LE FEBORE und LELONG, 1963; BEEM, 1967; PACCAUD und JAQUIER, 1970; INABA, TANAKA, SATO, ITO, OMORI und MATUMOTO, 1970; WELLEMANS, LEUNEN und LUCHSINGER, 1970; JACOBS und EDINGTON, 1971; ROSENQUIST, 1974; SMITH, FREY und DIERKS, 1975; MOHANTY, INGLING und LILLIE, 1975 und andere)

Der Nachweis komplementbindender Antikörper gegenüber dem RS-Virus bei Schafen, Schweinen und Pferden spricht für das Vorkommen des RS-Virus auch bei diesen Tierarten (BERTHIAUME, JONCAS, BOULAY und PAVILANIS, 1973; WOODS und MANSFIELD, 1971; WOODS und LADWIG, 1968)

2.3.1 Vorkommen und Verbreitung

2.3.1.1 RS-Virus des Menschen

Über das Vorkommen von RS-Virusinfektionen des Menschen wird seit 1957 vielerorts berichtet. Alljährlich im Spätherbst bis Frühjahr auftretende Epidemien kennzeichnen den Verlauf innerhalb einer Population. Eine Epidemie dauert zwischen 2 1/2 und 5 Monaten und weist einen deutlichen Höhepunkt auf, der in die Monate Dezember bis März fällt. (FOY, COONEY, McMAHAN und GRAYSTON, 1973; KIM, ARROBIO, BRANDT, JEFFRIES, PYLES, REID und CHANOCK, 1973; MUFSON, LEVINE, WASIL, MOCEGA-GONZALEZ und KRAUSE, 1973)

Die Morbiditätsrate und der Schweregrad der Erkrankung nehmen mit zunehmendem Alter ab; ebenso verschiebt sich das Krankheitsbild. Überwiegen bei Säuglingen und Klein-

kindern die Fälle von Bronchiolitis und Bronchopneumonie, so treten bei Schulkindern, Jugendlichen und Erwachsenen Infektionen des oberen Respirationstraktes, d. h. Bronchitis, Pharyngitis und Rhinitis in den Vordergrund. (BEEM, EGERER und ANDERSON, 1964; DEEM, 1967; GRIST, ROSS und STOTT, 1967; HOLZEL, PARKER, PATTERSON, WHITE, THOMPSON und TOBIN, 1963; PARROTT, KIM, ARROBIO, HODES, MURPHEY, BRANDT, CAMARGO und CHANOCK, 1973)

Besondere Bedeutung kommt dem RS-Virus in der Pädiatrie zu. Bei Kindern unter 6 Jahren ist RSV der häufigste Erreger akuter Erkrankungen des Respirationstraktes: bei 12 - 60 % akuter Fälle von Bronchiolitis und Bronchopneumonie ist RS-Virus maßgeblich beteiligt. (CHANOCK und FINBERG, 1957; FOY, COONEY, McMAHAN und GRAYSTON, 1973; FOY, COONEY, MALETZKY und GRAYSTON, 1973; KIM, ARROBIO, BRANDT, JEFFRIES, PYLES, REID und CHANOCK, 1973; MUFSON, LEVINE, WASIL, MOCEGA-GONZALEZ und KRAUSE, 1973; PARROTT, 1963)

Besonders gefürchtet sind Infektionen bei Säuglingen und Kleinkindern, die nicht selten zum Tode führen können (GERTH, 1965; MORRELL, MARKS, CHAMPLIN und SPENCE, 1975; URQUHART und GIBSON, 1970).

2.3.1.2 RS-Virus des Rindes

Über das Vorkommen von RS-Virus bei Rindern wird aus England, der Schweiz, Japan, Belgien und den USA berichtet. Das RS-Virus des Rindes wird in einem eigenen Kapitel besprochen (s. Kap. 2.4).

2.3.1.3 RS-Virus anderer Species

1956 isolierten MORRIS, BLOUNT und SAVAGE von Affen, die

an Schnupfen erkrankt waren, ein Virus, das sie als "CCA" (chimpanzee coryza agent) bezeichneten (MORRIS, BLOUNT und SAVAGE, 1956). CHANOCK, ROIZMAN und MYERS (1957) konnten ein Jahr später die enge Verwandtschaft dieses CCA mit einem von Kindern isolierten RS-Virus beweisen.

BERTHIAUME, JONCAS, BOULAY und PAVILANIS (1973) fanden bei 25 von 31 untersuchten Schafen und bei 2 von 34 Pferden komplementbindende Antikörper gegenüber humanem RS-Virus im Serum.

WOODS, MANSFIELD und LADWIG wiesen bei Schweinen und LÄMMERN komplementbindende Serumantikörper gegenüber RS-Virus nach (unveröff. Ergebnisse 1968, 1971).

2.3.2 Ausscheidung des RS-Virus

Als alleiniger Ausscheidungsweg für RS-Virus gilt die Schleimhaut des Respirationstraktes.

Zur virologischen Diagnose einer RSV-Infektion beim Menschen sind erfahrungsgemäß Nasen- und Rachenabstriche am besten geeignet (GARDNER und McQUILLIN, 1968; McQUILLIN und GARDNER, 1968; McQUILLIN, GARDNER und STURDY, 1970).

Die an Rindern vorgenommenen Virusisolierungen erfolgten jeweils aus Nasenabstrichen, kombinierten Nasen-Konjunktival-Proben oder aus Trachealschleim (JAKOBS und EDINGTON, 1971; PACCAUD und JAQUIER, 1970; ROSENQUIST, 1974; SMITH, FREY und DIERKS, 1975; WELLEMANS, LEUNEN und LUCHSINGER, 1970).

COATES und CHANOCK (1962) infizierten verschiedene kleine Versuchstiere intranasal mit hohen Dosen einer RS-Virus-

suspension. Ihr Versuch, aus Lunge, Niere, Leber und Milz zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Inokulation Virus zu reisolieren, scheiterte. Lediglich aus der Trachea und aus den Nasenmuscheln künstlich infizierter Frettchen konnte Virus isoliert werden.

2.3.3 Übertragung des RS-Virus

Für die Art der Übertragung des RS-Virus gibt es in der Literatur nur wenige Hinweise.

ROSSI und KIESEL (1974) untersuchten Antikörper-negative und offensichtlich gesunde Kälber, die selbst 24 Stunden in einem Händlerstall gestanden waren oder mit solchen Tieren Kontakt hatten. Sie stellten bei fast allen Kälbern eine deutliche Zunahme virusneutralisierender Serumantikörper gegenüber RS-Virus, bei einem geringeren Teil der Tiere außerdem Symptome einer respiratorischen Erkrankung fest.

Im Gegensatz dazu beobachteten MOHANTY, INGLING und LILLIE (1975) bei Infektionsversuchen an Kälbern, daß ein nicht infiziertes, aber in Kontakt mit infizierten Kälbern gehaltenes Kontrollkalb weder äußerlich noch serologisch Anzeichen einer Infektion aufwies.

Die geringe Tenazität des RS-Virus sowie das ausgesprochen rasche Fortschreiten der Infektion innerhalb einer Population lassen vermuten, daß die Übertragung des Virus hauptsächlich durch direkten Kontakt (Tröpfcheninfektion) erfolgt. (PACCAUD und JAQUIER, 1970)

2.3.4 Aufnahme des RS-Virus

Sehr vieles deutet darauf hin, daß die Aufnahme des RS-Virus unter natürlichen Bedingungen über die Schleimhäute des Atmungsapparates, besonders der oberen Atemwege

geschieht.

Von 41 künstlich auf intranasalem Wege infizierten Versuchspersonen entwickelten 20 einen typischen Schnupfen. Bei 33 Personen dieser Gruppe konnte das Angehen der Infektion virologisch oder serologisch nachgewiesen werden. (JOHNSON, CHANOCK, RIFKIND, KRAVETZ und KNIGHT, 1961; KRAVETZ, KNIGHT, CHANOCK, MORRIS, JOHNSON, RIFKIND und UTZ, 1961)

Intranasal experimentell infizierte Kälber entwickelten in fast allen Fällen sichtbare Krankheitssymptome (INABA, TANAKA, SATO, OMORI und MATUMOTO, 1972; JACOBS und EDINGTON, 1971; MOHANTY, INGLING und LILLIE, 1975; SMITH, FREY und DIERKS, 1975)

2.3.5 Wirtsspektrum und Infektketten

Die natürliche Infektion von Affen, Menschen und Rindern mit dem Respiratory Syncytial-Virus wurde wiederholt beschrieben (s. Kap. 2.3.1).

Durch den Nachweis komplementbindender Serumantikörper gegenüber dem RS-Virus bei Schafen, Schweinen und Pferden kommen auch diese drei Tierarten als natürliche Wirte des RS-Virus in Betracht (WOODS und MANSFIELD, 1971; WOODS und LADWIG, 1968; BERTHIAUME, JONCAS, BOULAY und PAVILANIS, 1973).

Humanes RS-Virus konnte experimentell auf intranasalem Wege auf Affen, Kaninchen, Meerschweinchen und Frettchen übertragen werden (COATES und CHANOCK, 1962; HAMB-LING, 1966; MANTYJARVI, BERGLUND und SALMI, 1967; PINTO, HOFF und STEWARD, 1969).

Bei fortlaufender intracerebraler Verimpfung vermehrt

sich humanes und bovines RS-Virus im Gehirn von Baby-mäusen (MORRIS, BLOUNT und SAVAGE, 1956; CAVALLARO und MAASSAB, 1966; MATUMOTO, INABA, KUROGI, SATO, OMORI, GOTO und HIROSE, 1974).

RS-Virusinfektionen breiten sich innerhalb dichter Populationen von Menschen und von Rindern rasch aus (FOY, COONEY, McMAHAN und GRAYSTON, 1973; KIM, ARRO-BIO, BRANDT, JEFFRIES, PYLES, REID und CHANOCK, 1973; MUFSON, LEVINE, WASIL, MOCEGA-GONZALEZ und KRAUSE, 1973; MORRELL, MARKS, CHAMPLIN und SPENCE, 1975; PAC-CAUD und JAQUIER, 1970; ROSSI und KIESEL, 1974).

Einen Hinweis auf die Übertragung des RS-Virus zwischen Menschen und Affen geben MORRIS, BLOUNT und SAVAGE (1956). Die Schimpansen, von denen das CCA isoliert wurde, wie auch die Pfleger, die mit den Tieren beschäftigt waren, litten zur gleichen Zeit an Schnupfen. Das von den Schimpansen isolierte Virus erwies sich später identisch mit einem vom Mensch stammenden RS-Virus (CHANOCK, ROIZMAN und MYERS, 1957).

Von der experimentellen Übertragung eines humanen RS-Virus auf ein Kalb berichten erstmals JACOBS und EDINGTON (1975). Ein 5 Wochen altes, gnotobiotisches Kalb, das intranasal mit einer Dosis von $10^{6,5}$ KID₅₀ eines humanen RS-Virus infiziert worden war, reagierte mit Fieber von $41,4^{\circ}$ C am 3. und 8. Tag nach der Infizierung. Am 5. Tag wurde aus dem Nasensekret Virus isoliert. Bei der Sektion fand man herdförmige Nekrosen im Epithel von Nasenmuschel und Luftröhre sowie neutrophile Granulozyten in der Lamina propria mucosae. Der Titer neutralisierender Serumantikörper stieg von weniger als $10^{-0,2}$ auf $10^{-0,9}$ an.

Für die natürliche Übertragung des RS-Virus zwischen Mensch und Rind gibt es in der Literatur keine Hinweise. Jedoch besteht zwischen den RS-Viren beider Species serologische Verwandtschaft:

- zahlreiche Autoren berichten über die hemmende Wirkung von Rinderseren auf die Vermehrung humanen RS-Virus (DOGGETT, TAYLOR-ROBINSON und GALLOP, 1968; INABA, TANAKA, OMORI und MATUMOTO, 1970; JACOBS und EDINGTON, 1971; PACCAUD und JAQUIER, 1970; ROSSI und KIESEL, 1974),
- umgekehrt wird bovines RS-Virus durch humane Rekonvaleszentenseren ebenfalls gehemmt (JACOBS und EDINGTON, 1971; PACCAUD und JAQUIER, 1970; ROSENQUIST, 1974),
- Kreuzneutralisationsversuche mit bovinen und humanen RS-Virusstämmen an Meerschweinchen und Kaninchen zeigen, daß sowohl homologe als auch heterologe Antiseren die Vermehrung in der Zellkultur deutlich hemmen; jedoch ist die neutralisierende Wirkung des homologen Serum um 3 - 5 2er Potenzen höher (INABA, TANAKA, OMORI und MATUMOTO, 1970; PACCAUD und JAQUIER, 1970; SMITH, FREY und DIERKS, 1975).

Zusammenfassend kann gesagt werden:

Mensch, Rind und Affe können als natürliche Wirte des RS-Virus gelten.

Das RS-Virus ist unter natürlichen Bedingungen leicht von Mensch zu Mensch und von Rind zu Rind übertragbar.

Für die Möglichkeit einer natürlichen Übertragung des Virus vom Affen auf den Menschen und umgekehrt gibt es Anhaltspunkte.

Die gelungene Übertragung eines humanen RS-Virus auf ein Kalb deutet auf die Möglichkeit des Übertragungsweges zwischen beiden Species hin. Jedoch lassen die antigenen Unterschiede von RS-Virusstämmen beider Species eine Übertragung unter natürlichen Bedingungen zweifelhaft erscheinen.

2.4 Das bovine Respiratory Syncytial-Virus

2.4.1 Vorkommen und Verbreitung

Erste Verdachtsmomente für das Vorkommen eines RS-Virus beim Rind erbrachten DOGGETT, TAYLOR-ROBINSON und GALLOP (1968), als sie in Rinderseren einen "Inhibitor" nachwiesen, welcher die zytopathogene Wirkung humanen RS-Virus in Zellkulturen unterdrückte. Auf Grund ihrer Untersuchungsergebnisse vermuteten sie, daß es sich bei dem "Inhibitor" um spezifische Antikörper handele.

Der erste direkte Nachweis eines RS-Virus beim Rind gelang PACCAUD und JAQUIER (1970) im Jahre 1967 in der Schweiz. Ausgangsmaterial für die Virusisolierungen waren Konjunktival-Nasentupferproben eines Kalbes und einer Färse mit akuter respiratorischer Erkrankung.

In den folgenden Jahren wird über weitere RS-Virus-Isolierungen aus Belgien, Japan, England und den USA berichtet. (WELLEMANS, LEUNEN und LUCHSINGER, 1970; INABA, TANAKA, OMORI und MATUMOTO, 1970; JACOBS und EDINGTON, 1971; ROSENQUIST, 1974; SMITH, FREY und DIERKS, 1975; MOHANTY, INGLING und LILLIE, 1975).

Im Gegensatz zu den wenigen erfolgreichen Isolierungsversuchen geben serologische Untersuchungen über die tatsächliche Verbreitung des RS-Virus in der Rinderpopulation

besser Auskunft. Besonders die Untersuchungsergebnisse von WELLEMANS und LEUNEN (1971 a), ROSSI und KIESEL (1974) sowie SMITH, FREY und DIERKS (1975) weisen auf eine weite Verbreitung des RS-Virus bei Rindern hin: 38 - 85 % der untersuchten Tiere hatten neutralisierende Serumantikörper gegenüber RS-Virus.

In der Tabelle 1 sind Literaturangaben über den direkten und indirekten Nachweis von RS-Virus bei Rindern zusammengestellt.

Aus der Bundesrepublik Deutschland lagen in der verfügbaren Literatur keine Berichte über das Vorkommen von RS-Virus bei Rindern vor.

Tabelle 1: Literaturangaben über den direkten und indirekten Nachweis von RS-Virus bei Rindern

Autoren und Jahr d. Veröffentlichung	Ort und Zeit d. Untersuchung	Virusisolierung	Virusbezeichnung	serologische Untersuchungen
DOGGETT, TAYLOR-ROBINSON, GALLOP, 1968	England, 1967	-	-	39 von 57 Rinderseren heuмен das Wachstum von RS-Virus
PACCAUD u. JAQUIER, 1970	Schweiz, Februar 1967	Konjunkt.-Nasen-Tupferproben v. 1 Kalb u. 1 Färse	Bov. X Bov. V	bei 8 von 10 Rindern Anstieg der Titer neutralisierender Serumantikörper
INABA, TANAKA, OMORI, MATUMOTO, 1970	Japan, Okt. 1968 - Apr. 1969	Nasensekret von 7 Rindern	"Nomi-Virus" NMK7, NMT7 NMK4, SAT4	56 von 58 Rinderseren hatten signifikante Anstiege neutralis. Antikörper
WELLEMANS, LEUNEN, LUCHSINGER, 1970	Belgien, 1969	-	V 220/69	-
WELLEMANS, LEUNEN, 1971 a	Belgien, 1965 bis 1971	-	-	Serumpaare aus 111 Betrieben hatten zu 38,7 % virusneutralis. Antikörper (Anstiege)
JACOBS, EDINGTON, 1971	England	Nasenabstrich von einem Kalb	"Dorset"	4 von 5 Kälbern deutl. Anstiege neutral. Serumantik.
ROSENQUIST, 1974	USA, Missouri, 1972	Nasenabstriche von zwei Kälbern	VC 484 VC 488	bei 3 von 8 unters. Kälbern Titeranstiege neutral. Serumantikörper
ROSSI und KIESEL, 1974	USA, Alabama 1968 - 1971	-	-	von 273 Rindern hatten 67 % neutral. Antikörper; von 184 Kälbern hatten 85 % deutl. Anstiege neutral. Antikörpertiter
SMITH, FREY und DIERKS, 1975	USA, Iowa, 1971	Nasenabstriche von zwei Kälbern	FS 1 - 1 FS 1 - 4	von 72 unters. Kälbern hatten 32 signifikante Titeranstiege neutral. Serumantikörper

2.4.2 Beziehungen zwischen Infektion und Krankheit

2.4.2.1 Natürliche Infektion

Die Mitbeteiligung des bovinen RS-Virus bei respiratorischen Erkrankungen von Rindern wurde in Europa, Japan und den USA beschrieben.

Die Virusisolierungen erfolgten im Verlaufe akuter, respiratorischer Bestandserkrankungen, wobei die Tiere Nasenausfluß, Husten und zum Teil Fieber hatten. Kälber und erwachsene Rinder waren gleichermaßen betroffen. Durch serologische Untersuchungen wurde festgestellt, daß fast alle Tiere eines Bestandes von der Infektion betroffen waren. (INABA, TANAKA, OMORI und MATUMOTO, 1970; PACCAUD und JAQUIER, 1970; ROSENQUIST, 1974; SMITH, FREY und DIERKS, 1975)

ROSSI und KIESEL (1974) wiesen nach, daß durch Kontakt mit Virusträgern innerhalb kurzer Zeit ganze Herden infiziert werden können. Sie deuten damit auf eine Beteiligung des RS-Virus beim "shipping-fever" in den USA hin.

WELLEMANS und LEUNEN (1971 a) untersuchten Serumpaare aus 111 Betrieben ganz Belgiens von 1965 - 1971 und fanden bei nahezu 40 % deutliche Antikörperanstiege gegenüber dem von ihnen isolierten bovinen RS-Virus. Die Beteiligung anderer Erreger war im Gegensatz dazu deutlich niedriger: PI-3 14,4 %, Adenovirus 16,2 %, BVD 5,4 %, IBR 1,8 %, P.L.V. 3,6 %.

JACOBS und EDINGTON (1971) beobachteten bei 14 Kälbern plötzlich auftretende respiratorische Erkrankungen mit wässrigem Nasenausfluß, erhöhter Atemfrequenz und Husten. Bei einem Kalb konnte durch Virusisolierung, bei vier der Tiere durch serologische Untersuchungen eine Infektion

mit RS-Virus nachgewiesen werden.

2.4.2.2 Experimentelle Infektion

EDINGTON und JACOBS (1970) infizierten gnotobiotische und konventionell aufgezogene Kälber mit bovinem RS-Virus, Stamm Bov. X (PAJCAUD und JAQUEN). Die Kälber zeigten nach einer Inkubationszeit von 2 - 4 Tagen Rhinitis und trockenen Husten. Der untere Respirationstrakt war bei konventionell aufgezogenen Kälbern stärker betroffen als bei gnotobiotischen Tieren. Die Erkrankung dauerte bei allen Kälbern mindestens 2 Wochen. Virusisolierung war nur in den frühen Stadien der Rhinitis möglich.

JACOBS und EDINGTON (1971) stellten nach künstlicher Infizierung eines gnotobiotischen Kalbes mit bovinem RS-Virus ein zweiphasiges Fieber fest.

SMITH, PERRY und DICKENS (1975) infizierten fünf 6 Wochen alte Kälber intranasal mit bovinem RS-Virus. Zwei der Tiere entwickelten am 4. Tag nach der Inokulation einen Anstieg der Körpertemperatur auf 40°C , Frequente Atmung, serösen Nasenausfluß und Fressunlust. Am Tag darauf ging das Fieber wieder zurück, die übrigen Symptome dauerten noch an. Vier der fünf infizierten Kälber wiesen einen signifikanten Anstieg der Titer neutralisierender Serumantikörper auf.

MOHANTY, INGLENG und LALLAN (1975) infizierten sieben 6 - 8 Wochen alte Kälber intranasal mit RS-Virus (Bov. X). Bei allen sieben infizierten Kälbern stieg am 7. und 8. Tag die rektale Temperatur von $39,8$ auf $40,5^{\circ}\text{C}$, um dann am 9. Tag wieder auf Normalwerte zurückzusinken.

Drei der Tiere hatten am 5. Tag leichten, blassen Nasenausfluß; am 9. Tag wurde bei 5 Kälbern Husten, bei diesen davon auch Polypose beobachtet. Zwei der infizierten Kälber bliesen außerdem eine Anzeichen einer Infektion. - Bei 6 Kälbern wurde am 7. und 9. Tag, bei einem nur am 9. Tag, aus dem Nasensekret Virus isoliert. Bei allen Tieren konnte zwischen dem 7. und 21. Tag eine Zunahme neutralisierender Serumantikörper festgestellt werden. Im Nasensekret waren zur selben Zeit nur sehr geringe Antikörpertiter nachweisbar. - Die Lektion eines infizierten Kalbes am 14. Tag ergabte in beiden Spitzen- und im rechten Annangeappen kleine, deutlich verdichtete Bezirke, die histologisch verschiedene Grade einer Pneumonie zeigten: die Wände der Alveolen waren von einkernigen Zellen verdickt, in den Lumina lagen zahlreiche, mehrkernige Pflanzzellen und mannigfaltige neutrophile Granulozyten; ferner waren Anzeichen einer Peribronchiolitis mit Metaplasie der Bronchiolalepithelzellen vorhanden. Im Bronchiolus fand sich Zelldebridement mit neutrophilen Granulozyten. Zwei der infizierten Kälber wurden am 21. Tag sezziert. Sie wiesen im Spitzen-, Annange- und Mittellappen kleine Bezirke einer interstitiellen Pneumonie auf; im Mikroskop sah man zahlreiche vielkernige Pflanzzellen ohne Zytoplasmainschlüsse.

JACOB und EDINGTON (1973) führten Infektionsversuche mit 3 Bovinen und einem humanen K₁-Virusstamm an insgesamt 29 gestoteteten, kolostromfrei bzw. konventionell aufgezogenen Kälbern durch. Alle 4 Virusstämme erzeugten nach intranasaler Infizierung bei gestoteteten, z. T. auch bei kolostromfrei und konventionell gehaltenen Kälbern ein zweiphasiges Fieber bis 40,6° C, Rhinitis mit

serösem Ausfluß und Husten. Zwischen dem 4. und 10. Tag post infectionem konnte bei fast allen Kälbern aus dem Nasensekret Virus reisoliert werden. Bei 10 von 16 Kälbern, die am 7. bis 13. Tag getötet wurden, gelang die Virusisolierung aus Proben vom Respirations-trakt, und zwar in 10 Fällen von Material der Nasenschleimhaut, siebenmal aus der Trachea, viermal aus Bronchialschleim und zweimal aus Lungengewebe. - Bei der Sektion waren makroskopisch keine besonderen Befunde zu erheben. Histologisch zeigten 13 der 16 sezierten Kälber Veränderungen an den Schleimhäuten der Atemwege und im Bereich der kleinen Bronchien. Die Schleimhautveränderungen bestanden aus Verklebungen, Nekrosen, Abschilferungen und völligem Fehlen, verbunden mit neutrophiler Durchsetzung der Lamina propria. Im Epithel der Nasenschleimhaut eines Kalbes wurden Phloxin-positive, intraplasmatische Einschußkörperchen entdeckt. Die Wände der Bronchiolen waren verdickt, in den Lumina fanden sich z. T. neutrophile Granulozyten, seltener auch Syncytien. - Anstiege der Titer neutralisierender Serumantikörper gegenüber dem RS-Virus wurden bei 8 von 14 Tieren beobachtet. Bei anderen Kälbern wurden Infektionen trotz Vorhandensein neutralisierender Serumantikörper nachgewiesen.

Diese Untersuchungsergebnisse zeigen, daß Infektionen mit bovinem RS-Virus unter bestimmten Bedingungen zu einer milden, respiratorischen Erkrankung führen können.

Ähnliche, allerdings etwas mildere, klinische Erscheinungen konnten auch bei der experimentellen Infektion eines gnotobiotischen Kalbes mit einem humanen RS-Virus beobachtet werden. Bei dem infizierten Kalb kam es zu

einem zweiphasigen Lieber, zur Zunahme virusneutralisierender Serumantikörper und zu geringfügigen Alterationen der Schleimhaut von Nasenschleim- und Trachea. Am 5. Tag nach der Infizierung wurde das BL-Virus aus dem Nasensekret reisoliert. (JACOBS und EDINGTON, 1975)

2.4.2.3 Antikörper und Immunität

Neutralisierende Antikörper gegenüber BL-Virus sind sowohl im Serum als auch im Nasensekret von Rindern nachgewiesen worden. (DOGGIETTI, TAYLOR-ROBINSON und GALLUP, 1968; INABA, TANAKA, SATO, ITO, OMORI und MATUMOTO, 1970; JACOBSON und EDINGTON, 1971; PACCAUD und JAQUIER, 1970; ROSENQUIST, 1974; ROSSI und KIESEL, 1974; SMITH, FREY und DIERKS, 1975; WELLEMANS und LEUNEN, 1971 a)

Komplementbindende Antikörper gegenüber bovinem BL-Virus in Rinderseren fanden PACCAUD und JAQUIER (1970).

Die festgestellten Serummater lagen zwischen 1:4 und 1:1024, meistens im Bereich bis 1:128.

PACCAUD und JAQUIER (1970) untersuchten Serumpaare von 10 Rindern im Abstand von 15 Tagen. Sie stellten bei 8 der Tiere signifikante Anstiege neutralisierender, bei 7 der Tiere ebensolche Anstiege komplementbindender Antikörper im Serum fest.

SMITH, FREY und DIERKS (1975) konnten bei 4 von 5 künstlich infizierten Kalbern signifikante Anstiege der Titer neutralisierender Serumantikörper (4fach oder größer) feststellen. Die Antikörper persistierten bis zum 60. Tag nach der Infektion in unveränderter Höhe (1:128 bis 1:1024).

MOHANTY, INGLING und LILLIE (1975) untersuchten Serum- und Nasensekret-Proben von sieben künstlich infizierten Kälbern am 7., 14., 21. und 39. Tag nach der Infizierung. Sie stellten bei 5 Tieren geringe Anstiege virusneutralisierender Serumantikörper bis zum 14. und 21. Tag fest; am 39. Tag waren nur noch bei zwei Kälbern Serumantikörper nachweisbar. Bei allen infizierten Kälbern konnten am 7. und 21. Tag, bei zweien auch am 39. Tag geringe Mengen sekretorischer Antikörper im Nasensekret nachgewiesen werden.

ROSENQUIST (1974) wies bei einem Kalb mit akuter, respiratorischer Erkrankung durch Virusisolierung eine Infektion trotz Vorhandensein neutralisierender Serumantikörper nach.

SMITH, FREY und DIERKS (1975) stellten bei einem Kalb, das vor Versuchsbeginn neutralisierende Serumantikörper gegenüber dem RS-Virus (Serumverdünnung 1:128) aufwies, nach dessen künstlicher Infizierung mit bovinem RS-Virus Fieber, Husten und Inappetenz fest. Der Antikörpertiter im Serum blieb einen Monat lang gleich und sank im 2. Monat auf die Hälfte ab.

JACOBS und EDINGTON (1975) beobachteten bei mehreren künstlich infizierten Kälbern Infektionen mit RS-Virus bei Vorhandensein neutralisierender Serumantikörper mit Titern unter 1:100. Tiere mit höheren Antikörpertitern schienen gegen die Infektion geschützt zu sein.

Die Bildung virusneutralisierender Serumantikörper infolge einer Infektion mit dem RS-Virus beim Rind und deren Auftreten vom 14. Tag nach der Infektion an wurde wiederholt beschrieben. Bei fünf Kälbern konnte das

Persistieren neutralisierender Serumantikörper bis zum 60. Tag nach der Infektion nachgewiesen werden.

Die Frage des Schutzes humoraler Antikörper gegen eine RS-Virusinfektion beim Rind bleibt nach diesen Untersuchungsergebnissen ungeklärt. Allem Anschein nach genügen auch bei RS-Virusinfektionen des Kalbes neutralisierende Serumantikörper nicht, um das Tier vor einer Neuinfektion zu schützen. Wie bei vielen anderen, bevorzugt lokal ablaufenden Viruserkrankungen spielen hier sicher neben lokalen, sekretorischen Antikörpern vor allem zelluläre Abwehrmechanismen eine grosse Rolle. Der Nachweis von Serumantikörpern eignet sich deshalb vor allem für epizootologische Untersuchungen und für die serologische Diagnose.

3 Eigene Untersuchungen

3.1 Material und Methoden

3.1.1 Zellkulturen

Zur Viruszüchtung und zur Durchführung der Neutralisationstests wurden Kulturen sekundärer, fetaler Kälbernierenepithelzellen ("sek. ENK") verwendet.

Die Aufschließung des Nierenrindenmaterials erfolgte durch fraktioniertes Trypsinieren mit 0,25 %iger Trypsinlösung bei 37° C. Nach Zentrifugation (5 Min. bei ca. 350 g) wurde das Zellsediment in phosphatgepufferter Salzlösung (pH = 7.4) suspendiert, die Suspension abermals zentrifugiert. Die anschließend in Anzuchtmedium aufgenommenen Zellen (400.000 Zellen pro ml Medium) wurden in Portionen zu 80 ml in Rouxschalen (210 cm² Kulturfläche) oder zu 60 ml in Industrieflaschen (150 cm² Kulturfläche) abgefüllt und bei 37° C bebrütet. Nach 24 Std. ist das Medium erneuert worden.

Das Anzuchtmedium bestand aus

78 %	Earle'scher Lösung
10 %	fetalem Kälberserum
10 %	hydrolysiertem Laktalbumin (5 %ige Lösung)
2 %	Phenolrot (0,1 %ige Lösung)
200 I. E.	Penicillin pro ml, und
200 G	Dihydrostreptomycin pro ml.

Zur Subkultivierung wurden die Zellen mit einer Trypsin-Versen-Lösung (0,05 % Trypsin, 0,025 % Versen) von der Gefäßwand gelöst, abzentrifugiert und erneut in Anzuchtmedium aufgenommen (Teilungsrate 1:2 - 1:3). Diese Zellsuspension wurde in Mengen zu 1,5 ml in Zellkulturröhrchen abgefüllt und stationär bei 37° C bebrütet.

Die so hergestellten Sekundärkulturen wuchsen in der Regel innerhalb 3 - 4 Tagen zu einem dichten Rasen aus. Zu diesem Zeitpunkt wurden die Zellkulturen mit Virusmaterial bzw. Neutralisationsgemisch beimpft und mit Erhaltungsmedium versorgt.

Das Erhaltungsmedium setzte sich zusammen aus

88 %	Eagle's Medium (MEM)
5 %	fetalem Kälberserum
5 %	hydrolysiertem Laktalbumin (5 %ige Lösung)
2 %	Phenolrot (0,1 %ige Lösung)
6 mg	Yeast Extrakt / ml
200 I.E.	Penicillin / ml
200 G	Dihydrostreptomycin / ml.

3.1.2 Virusmaterial

Alle Untersuchungen wurden mit dem bovinen Respiratory Syncytial-Virus, Stamm "Bov. X" von PACCAUD* und JAQUIER (1970), in der 14. Kälbernierenkulturpassage durchgeführt.

3.1.2.1 Viruszüchtung und Virusernte

Die Herstellung des Testantigens für den Neutralisationstest erfolgte in Rollerflaschenkulturen (570 cm² Kulturfäche). Pro Rollerflasche wurden 2 ml unverdünntes Virusmaterial 2 Stunden lang bei 37° C adsorbiert; dann wurde Erhaltungsmedium hinzugegeben (100 ml) und bei 37° C im Rollerapparat bebrütet.

Am 7. Tag der Bebrütung (bei ca. 10 %iger Zerstörung des Zellrasens) sind die Kulturen einschließlich Kulturmedium bei -70° C eingefroren, wieder aufgetaut und der Zelldetritus durch Zentrifugieren (10 Min. bei ca. 1500 g) entfernt worden. Der Überstand, in Mengen von 2,5 ml abgefüllt und bei -70° C gelagert, diente als Testantigen.

* Für die Überlassung des Virusstammes danken wir Herrn Dr. F. PACCAUD, Genf.

3.1.2.2 Virustitrationen

Zur Bestimmung der Infektiosität des Antigens wurde Testantigen in 10-er Potenzen mit Erhaltungsmedium verdünnt. Von jeder Verdünnungsstufe sind vier Röhrchenkulturen mit je 0,1 ml beimpft worden. Nach 2-stündiger Adsorption bei Zimmertemperatur wurden die Röhrchen mit 2 ml Erhaltungsmedium gefüllt und im Rollerapparat bei 37° C bebrütet. Der zytopathische Effekt wurde vom 5. Tag an verfolgt. Die Ablesung geschah unter dem Lichtmikroskop in ungefärbtem Zustand. Als positiv galten Kulturen, die im Vergleich zu unbeimpften Kontrollen virusspezifisch degeneriert waren. Die Berechnung des Infektiositätstiters erfolgte nach der Methode von SPAERMANN und KAERBER (s. BONIN, 1973). Maximale Titer von $10^{4,5}$ KID₅₀ / 0,1 ml wurden am 7. - 10. Tag nach der Beimpfung erreicht.

3.1.3 Seren

3.1.3.1 Zahl, Alter und Herkunft der untersuchten Tiere

Die Untersuchung umfaßte insgesamt 715 Serumproben von Rindern aus dem Raum Bayern, die in den Jahren 1968, 1971 und 1975 gesammelt wurden. Davon sind

- a) 117 Seren von Rindern aus 90 Beständen in 31 Landkreisen Bayerns und
- b) 598 Seren von Kälbern und Rindern aus dem Städtischen Schlachthof München.

Die im Schlachthof München genommenen Seren teilen sich auf in 215 Kälberseren aus dem Jahre 1971 und 383 Kälber- und Rinderseren aus dem Jahre 1975. Letztere wurden an 10 Schlachttagen im Mai, Juni und Juli gesammelt.

Der Münchner Schlachthof hat als Einzugsgebiete die Re-

gierungsbezirke Oberbayern und Niederbayern. Alle Rinder, mit Ausnahme der Kälber, werden am Tage vor der Schlachtung angefahren und einzeln vermarktet. Dabei werden sie mit Nummern versehen und im Verlaufe des Markttages wiederholt umgestellt, wobei die vom Transport bestehenden Verbände aufgelöst werden und neue Gruppen entstehen. Dadurch kommt am Schlachtband, wo die Proben genommen wurden, eine Reihenfolge zustande, die die Häufung von Rindern aus einer bestimmten Region nicht erwarten läßt.

Es erwies sich als unmöglich, mit Hilfe der Marktnummern die Herkunft der untersuchten Tiere in Erfahrung zu bringen. Jedoch konnte bei 129 von 246 Rindern (76,2 %) durch Zählung der Hornringe und Euterbetrachtung bei weiblichen bzw. Gewichtsschätzung bei männlichen Tieren das ungefähre Alter ermittelt werden.

Die Kälber werden wenige Stunden nach ihrer Ankunft noch am selben Tage geschlachtet. Dabei bleiben die vom Transport bestehenden Verbände erhalten, so daß die geographische Streuung bedeutend kleiner als bei den Rindern anzusetzen ist.

Das Alter der untersuchten Kälber betrug ca. 3 - 4 Monate, da es sich durchweg um Mastkälber mit einem Schlachtgewicht von ca. 100 - 150 kg handelte.

In der folgenden Aufstellung sind die untersuchten Tiere nach Alter, Herkunft und Zeitpunkt der Probenentnahme in vier Gruppen eingeteilt:

Tab. 2: Zahl, Alter und Herkunft der untersuchten Tiere

Tiergruppe	A	B	C	D
Zahl der Tiere	215	135	248	117
Alter	Mastkälber 3-4 Monate	Mastkälber 3-4 Monate	1- 14 Jahre	9 Monate bis 14J.
Datum der Probenn.	1971	1975	1975	1968
Herkunft	Schlachthof München (Oberbayern, Niederbayern)			90 Bestände Bayerns

3.1.3.2 Kontrollseren

3.1.3.2.1 Anti-RS-Virus-Immunseren

Zwei Kaninchen erhielten von unverdünntem RS-Zellkulturvirus (10^5 KID₅₀ / ml) je 1 ml intramuskulär und intraperitoneal zur Grundimmunisierung sowie vier weitere intravenöse Injektionen mit je 1 ml im Abstand von 7 Tagen. Am 12. Tag nach der letzten Injektion wurden die Kaninchen entblutet und die Seren gewonnen.

3.1.3.2.2 Negative Kontrollseren

Als negative Kontrollseren dienten

- Serumproben, die den zur Herstellung von Immunseren verwendeten Kaninchen vor der ersten Injektion von Virusmaterial entnommen worden waren
- 31 Seren von Rinderfeten, die im Schlachthof München gewonnen worden waren.

3.1.3.3 Behandlung der Seren

Alle Seren wurden bei 56° C eine halbe Stunde lang inaktiviert, auf Sterilität geprüft und bis zur Verwendung im

Neutralisationstest bei -20° C aufbewahrt.

3.1.4 Neutralisationstest

Die zu untersuchenden Rinder- und negativen Kontrollseren wurden in einer Verdünnung von 1:4, die Anti-RS-Virus-Immunseren zusätzlich in den Verdünnungen 1:8, 1:16, 1:32 und 1:64, auf ihre neutralisierende Wirkung einer RS-Virussuspension geprüft, die ca. 100 KID₅₀ pro 0,1 ml enthielt. Je 0,8 ml der entsprechenden Serum- und Antigenverdünnungen sind gemischt und eine Stunde im Wasserbad bei 37° C inkubiert worden. Von jedem Reaktionsgemisch wurden 0,2 ml auf je drei ENK-Röhrchenkulturen verimpft und zwei Stunden bei Zimmertemperatur zur Adsorption stehengelassen.

Dann wurden die Röhrchen mit je 2 ml Erhaltungsmedium gefüllt und bei 37° C im Rollerapparat bebrütet. Bei jedem angesetzten Test liefen Zellkulturkontrollen und Viruskontrollen (Kontrolltitration der Antigengebrauchssuspension) parallel. Zur Kontrolle des Testes sind ausserdem Neutralisationsgemische mit fetalen Rinderseren und Kaninchenimmunseren mitgeführt worden.

Die Ablesung erfolgte am 5., 6. oder 7. Tag der Bebrütung, sobald die Kontrolltitration der im Test verwendeten Antigensuspension etwa 100 KID₅₀ / 0,1 ml ergab. Als positiv galten alle Seren, bei denen in mindestens zwei der drei Teströhrchen kein den Viruskontrollen entsprechender zytopathischer Effekt zu beobachten war.

3.2 Untersuchungen und Ergebnisse

3.2.1 Untersuchungen zur Spezifität des Neutralisationstestes mit bovinem RS-Virus

3.2.1.1 Vorkommen von neutralisierenden Antikörpern gegenüber bovinem RS-Virus in fetalen Rinderseren

31 fetale Rinderseren wurden in der Verdünnung 1:4 auf das Vorkommen von neutralisierenden Antikörpern gegenüber bovinem RS-Virus untersucht. In keinem der Seren konnte eine das Testvirus neutralisierende Aktivität festgestellt werden.

3.2.1.2 Vorkommen von neutralisierenden Antikörpern in Kaninchen vor und nach der parenteralen Applikation von bovinem RS-Virus

Vor der Immunisierung mit RS-Virus waren in keinem der beiden Kaninchenseren neutralisierende Antikörper gegenüber RS-Virus nachweisbar (Antikörpertiter kleiner als $2^{-1,75}$). Dagegen betrug der Titer virusneutralisierender Serumantikörper nach der Immunisierung $2^{-3,25}$ bzw. $2^{-4,5}$).

3.2.2 Untersuchungen über das Vorkommen von neutralisierenden Antikörpern gegenüber bovinem RS-Virus in Kälber- und Rinderseren

3.2.2.1 Allgemeiner Überblick

Insgesamt wurden 715 Kälber- und Rinderseren auf das Vorkommen neutralisierender Antikörper gegenüber bovinem RS-Virus untersucht. Alle Tests wurden mit einer Serumverdünnung von 1:4 durchgeführt. Von den 715 untersuchten Seren hatten 410 (57,3 %) virusneutralisierende Antikörper gegenüber bovinem RS-Virus, bei 305 Seren war der Antikörpertiter kleiner als 1:4.

Die 715 Seren stammten von 350 Schlachtkälbern (Probenentnahme 1971 bzw. 1975) und von 365 älteren Rindern

(Entnahme 1968 bzw. 1975).

In beiden Tiergruppen, -Kälber und Rinder -, waren die Ergebnisse je nach dem Zeitpunkt der Probenentnahme unterschiedlich. Bei den 1971 entnommenen Kälberseren reagierten mit 41,4 % annähernd doppelt so viele positiv wie bei den 1975 entnommenen Seren (22,2 %). Weniger groß waren die Unterschiede bei den Rinderseren: von den Seren aus dem Jahre 1968 hatten 73,5 % neutralisierende Antikörper gegenüber bovinem RS-Virus, während es bei den Seren aus dem Jahre 1975 82,7 % waren.

Die Einzelergebnisse der Untersuchung sind in der Tabelle 3 zusammengefaßt.

Tab. 3: Vorkommen virusneutralisierender Serumantikörper gegenüber bovinem Respiratory Syncytial-Virus bei Rindern in Bayern (Serumverdünnung 1:4)

Tiergruppe	Alter d. Tiere u. Zeitp. der Probenentnahme	Zahl der untersuch- ten Tiere	Zahl d. serologisch positiven Reagenten
A	3-4 Mte, 1971	215	89 (41,4 %)
B	3-4 Mte, 1975	135	30 (22,2 %)
C	1-14 J. 1975	248	205 (82,7%)
D	1-14 J. 1968	117	86 (73,5 %)
Summe A+B+C+D	3 Monate bis 14 Jahre	715	410 (57,3 %)

3.2.2.2 Aufschlüsselung der Ergebnisse unter besonderer Berücksichtigung des Alters der untersuchten Tiere

Das Alter der untersuchten Kälber betrug 3 - 4 Monate, bei

den Rindern lag es zwischen 1 und 14 Jahren.

An den Untersuchungsergebnissen fällt besonders auf, daß bei Kälbern der prozentuale Anteil der Tiere mit RS-Virus-Antikörpern geringer ist als bei den älteren Rindern: 119 (34,0 %) von 350 Kälbern reagierten serologisch positiv; demgegenüber hatten 291 (79,7 %) von 365 untersuchten älteren Rindern neutralisierende Antikörper gegenüber dem bovinen RS-Virus (siehe Tabelle 3).

Bei den meisten der älteren Rinder war das Alter entweder genau bekannt (alle Tiere der Gruppe D) oder es konnte geschätzt werden (189 von 248 Tieren der Gruppe C). Lediglich bei 59 Rindern war eine Altersbestimmung unmöglich.

In den Abbildungen 1 und 2 sind die Rinder der Gruppe C (soweit ihr Alter bekannt ist) und D in Altersgruppen (1 - 14 Jahre) aufgeteilt und die Anzahl der in den einzelnen Gruppen untersuchten Tiere (Gesamtsäule) als auch der jeweilige Anteil serologisch positiver Reagenten (schraffierter Teil der Säule) aufgezeichnet. Die relativ geringe Zahl der Tiere pro Altersgruppe läßt direkte Vergleiche zwischen den einzelnen Gruppen nur mit Einschränkung zu. Allerdings wird deutlich, daß

- in allen Gruppen der 1 - 14 Jahre alten Rinder mindestens die Hälfte der untersuchten Tiere Antikörper gegenüber bovinem RS-Virus besaßen, und
- die relative Häufigkeit serologisch positiver Tiere mit steigendem Alter zunimmt. Am auffälligsten zeigt sich dieses bei den Rindern der Gruppe C: hier hatten 20 von 21 der neun und mehr Jahre alten Rinder Antikörper gegenüber dem bovinen RS-Virus.

Abb. 1: Vorkommen neutralisierender Serumantikörper bei Rindern der Gruppe C (189 Rinder, Schlachthof München 1975)

Anzahl der Tiere

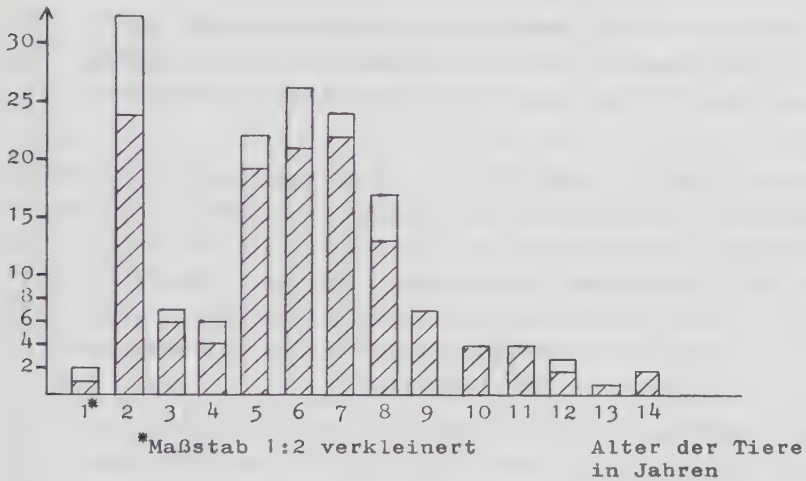
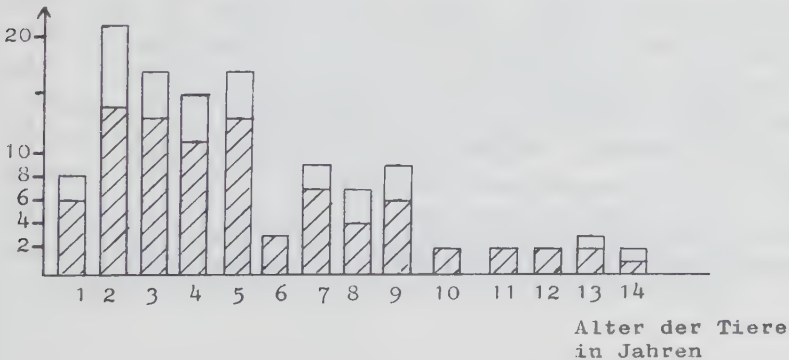


Abb. 2: Vorkommen neutralisierender Serumantikörper bei Rindern der Gruppe D (117 Rinder aus 90 Beständen Bayerns, 1968)

Anzahl der Tiere



BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Um die Verbreitung des RS-Virus in der Rinderpopulation Bayerns in Erfahrung zu bringen, wurden 715 Seren von Kälbern und älteren Rindern in einer Verdünnung von 1:4 auf das Vorkommen virusneutralisierender Antikörper gegenüber dem bovinen Respiratory Syncytial-Virus untersucht.

Zunächst sind zur Kontrolle des dabei angewandten Neutralisationstests Kaninchen mit Testantigen immunisiert und anschließend auf das Vorkommen virusneutralisierender, gegen das Testantigen gerichteter Antikörper untersucht worden. Zwei immunisierte Kaninchen besaßen am 12. Tag nach der Immunisierung virusneutralisierende Serumantikörper mit Titern von $2^{-3,5}$ bzw. $2^{-4,5}$.

Diese Ergebnisse, sowie die Tatsache, daß weder in den vor der Immunisierung der Kaninchen entnommenen Serumproben noch in Seren von 31 Rinderfeten eine neutralisierende Aktivität gegenüber bovinem RS-Virus nachgewiesen werden konnte, wurden als ausreichende Gewähr für die Spezifität der angewandten Versuchstechnik angesehen.

Für die Erstellung einer ersten Übersicht über die Verbreitung des Virus hielten wir die Untersuchung von Seren in einer Grundverdünnung von 1:4 als ausreichend, nachdem ROSSI und KIESEL (1974) Antikörpertiter von 1:4 oder höher, MOHANTY, INGLING und LILLIE (1975) sogar Titer ab 1:2 als spezifisch erachten.

Von den insgesamt 715 untersuchten Rinderseren hatten 410 virusneutralisierende Antikörper gegenüber dem bo-

vinen Respiratory Syncytial-Virus. Das sind 57,3 %, ein Wert, der den Ergebnissen anderer Untersuchungen entspricht, in denen Anteile von 38 - 85 % serologisch positiver Reagenten beschrieben werden (PACCAUD und JAQUIER, 1970; INABA, TANAKA, OMORI und MATUMOTO, 1970; WELLEMANS und LEUNEN, 1971 a; JACOBS und EDINGTON, 1971; ROSENQUIST, 1974; ROSSI und KIESEL, 1974).

Zwischen den Ergebnissen bei Kälbern und älteren Rindern zeigte sich ein erheblicher Unterschied. 119 (34,0 %) der 350 3 - 4 Monate alten Kälber im Gegensatz zu 291 (79,7 %) der 365 1 - 14 Jahre alten Rinder hatten virus-neutralisierende Serumantikörper gegenüber bovinem RS-Virus. Damit reagierten mehr als doppelt so viele ältere Rinder wie Kälber serologisch positiv.

Ungewiß ist bei vorliegenden Ergebnissen, inwieweit die bei den Kälbern nachgewiesenen Antikörper noch maternalen Ursprungs bzw. bereits Folge einer natürlichen Infektion mit dem RS-Virus sind. Die Erfahrungen bei anderen Virusarten sowie Untersuchungen über die Halbwertszeit kolostraler Immunglobuline bei Kälbern haben gezeigt, daß die Periode der passiven Immunität zwar individuell sehr verschieden ist, im Alter von 3 - 4 Monaten jedoch von der eigenen Immunabwehr des Kalbes abgelöst wird (MAYR, A., 1963; STRAUB, 1969; STEINBACH, 1973). Man darf deshalb annehmen, daß bei den Kälbern teils passive, teilweise aber auch aktive Antikörper erfaßt wurden. Im Neutralisationstest lassen sich diese Antikörperarten nicht differenzieren.

Interessant ist aber die im Vergleich zu den älteren Rindern relativ geringe Anzahl serologisch positiver Reagenten bei den Kälbern: man kann davon ausgehen,

daß diese jungen Tiere vor Infektionen mit bovinem RS-Virus in geringerem Umfang geschützt sind, als ältere Tiere. Zieht man zusätzlich in Betracht, daß das RS-Virus als an respiratorischen Erkrankungen bei Rindern beteiligt wiederholt beschrieben wurde (PACCAUD und JAQUIER, 1970; INABA, TANAKA, SATO, OMORI und MATUMOTO, 1972; WELLEMANS, LEUNEN und LUCHSINGER, 1971 a; JACOBS und EDINGTON, 1971; ROSENQUIST, 1974; ROSSI und KIESEL, 1974), andererseits respiratorische Erkrankungen bei Rindern in Bayern insbesondere die Gruppe der 3 - 12 Monate alten Tiere belasten (WIZIGMANN, pers. Mitt.), so liegt der Verdacht nahe, daß bei diesen Erkrankungen neben Adenoviren, Reoviren, Rhinoviren und PI-3-Virus auch das RS-Virus eine Rolle spielt.

Weiterhin wurden Unterschiede zwischen den Ergebnissen der zu verschiedenen Zeitpunkten entnommenen Serumproben festgestellt. Die untersuchten Kälberseren zerfielen in zwei Gruppen:

215 Kälber, die 1971 (Gruppe A) und 135 Kälber, die 1975 (Gruppe B) am Münchner Schlachthof geschlachtet wurden. In der Gruppe A betrug der Anteil serologisch positiver Reagenten 41,4 %, in der Gruppe B 22,2 %. Von den Kälbern des Jahres 1971 hatten demnach fast doppelt so viele virusneutralisierende Serumantikörper wie von den Kälbern aus dem Jahre 1975. Dieser Unterschied ist, insbesondere weil Angaben über die Herkunft der Tiere fehlen, nicht interpretierbar.

Die Seren der ein bis vierzehn Jahre alten Rinder stammten zum einen von 117 Tieren aus 90 Beständen in 31 Landkreisen Bayerns aus dem Jahre 1968 (Gruppe D) und zum anderen von 248 Rindern, die 1975 am Schlacht-

hof München geschlachtet wurden (Gruppe C). Von den Rindern aus dem Jahre 1968 hatten 73,5 %, von denen aus dem Jahre 1975 82,7 % virusneutralisierende Serumantikörper gegenüber dem RS-Virus. Der Anteil der Bestände mit positiven Reagenten in der Gruppe D betrug 77,8 % (70 der 90 untersuchten Bestände). Die relativ geringen Unterschiede in beiden Rindergruppen gestatten keine weitere Interpretation, zumal die Serumproben auf unterschiedliche Weise gesammelt wurden und einerseits aus dem gesamten bayerischen Raum, andererseits aus dem Einzugsgebiet des Münchner Schlachthofes (Oberbayern und Niederbayern) stammen.

Die vorliegenden Untersuchungen haben ergeben, daß Infektionen mit dem Respiratory Syncytial-Virus bei Rindern in Bayern häufig sind. Es bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten, die Frage der Beteiligung des RS-Virus am respiratorischen Krankheitsgeschehen bei Rindern in Bayern abzuklären.

ZUSAMMENFASSUNG

715 Serumproben von Kälbern und älteren Rindern aus dem Raum Bayern wurden auf neutralisierende Antikörper gegenüber dem bovinen Respiratory Syncytial-Virus untersucht.

410 (57,3 %) der untersuchten Tiere besaßen neutralisierende Serumantikörper gegenüber dem bovinen RS-Virus.

350 Seren stammten von 3 - 4 Monate alten Kälbern, die in den Jahren 1971 und 1975 am Städtischen Schlachthof München geschlachtet worden waren. Davon besaßen 119 (34,0 %) neutralisierende Serumantikörper gegenüber bovinem RS-Virus.

Von 365 Seren ein bis vierzehn Jahre alter Rinder, die 1968 in 90 Betrieben Bayerns und 1975 am Münchner Schlachthof entnommen worden waren, reagierten 291 (79,7 %) serologisch positiv.

Der sehr hohe Anteil serologisch positiver Reagenten bei erwachsenen Tieren zeigt, daß Infektionen mit dem Respiratory Syncytial-Virus bei Rindern in Bayern weit verbreitet sind.

Auf Grund des im Vergleich zu den älteren Rindern relativ geringen Prozentsatzes serologisch positiver Reagenten bei den Kälbern muß das Respiratory Syncytial-Virus in Bayern als potentiell mitverantwortlich für respiratorische Erkrankungen bei jungen Tieren angesehen werden.

SUMMARY

715 sera were obtained from calves and elder cattle in Bavaria and tested for neutralizing antibodies against bovine respiratory syncytial virus.

410 (57,3 %) of the examined animals had neutralizing serum antibodies against the bovine respiratory syncytial virus.

350 sera were sampled from 3 - 4 months old calves slaughtered in 1971 and 1975 at the municipal slaughterhouse in Munich. 119 (34,0 %) of these calves had neutralizing antibodies against bovine respiratory syncytial virus. - Out of 365 sera from 1 - 14 year old cattle taken in 1968 in 90 Bavarian farms and in 1975 at the slaughterhouse in Munich 291 (79,7 %) had detectable neutralizing antibodies.

The high rate of sero-positive elder cattle indicates that infections with respiratory syncytial virus are found to be widespread in Bavarian cattle.

On account of the relatively low rate of sero-positive calves compared with elder cattle the respiratory syncytial virus must be considered as jointly responsible for respiratory diseases in young animals in Bavaria.

LITERATURVERZEICHNIS

- ARMSTRONG, J. A., H. G.
PEREIRA and R. C. VALENTINE,
1962 Morphology and development of
respiratory syncytial virus in
cell culture.
Nature (Lond.) 196, 1179
- BÄCHI, T. and C. HOWE, 1973 Morphogenesis and ultrastruc-
ture of respiratory syncytial
virus.
J. Virol. 12, 1173
- BEEM, M., 1967 Repeated infections with
respiratory syncytial virus.
J. Immunol. 98, 1115
- BEEM, M., R. EGERER and
J. ANDERSON, 1964 Respiratory syncytial virus
neutralizing antibodies in
persons residing in Chicago,
Illinois.
Pediatrics 34, 761
- BEEM, M., F. H. WRIGHT, D.
HAMRE, R. EGERER and M.
OEHME, 1960 Association of the chimpanzee
coryza agent with acute respi-
ratory disease in children.
N. Engl. J. Med. 263, 523
- BENNETT, C. R. and D. HAMRE,
1962 Growth and serological charac-
teristics of respiratory syncy-
tial virus.
J. Inf. Dis. 110, 8

BERTHIAUME, L., J. JONCAS,
G. BOULAY and V. PAVILANIS,
1973

Serological evidence of re-
spiratory syncytial virus in-
fection in sheep.
Vet. Rec. 93, 337

BERTHIAUME, L., J. JONCAS,
and V. PAVILANIS, 1974

Comparative structure, morpho-
genesis and biological charac-
teristics of the respiratory
syncytial (RS) virus and the
pneumonia virus of mice (PVM).
Arch. Ges. Virusf. 45, 39

BLOTH, B., A. ESPMARK, E.
NORRBY and S. GARD, 1963

The ultrastructure of respira-
tory syncytial virus.
Arch. Ges. Virusf. 13, 582

BLOTH, B. and E. NORRBY,
1967

Electron microscopic analysis
of the internal component of
respiratory syncytial virus.
Arch. Ges. Virusf. 21, 71

BONIN, O., 1973

Quantitativ - virologische
Methodik.
Thieme Verlag, Stuttgart

BUSSELL, R. H., D. J. WA-
TERS and M. K. SEALS, 1974

Measles, canine distemper and
respiratory syncytial virions
and nucleocapsids. A compara-
tive study of their structure,
polypeptide and nucleic acid

- composition.
Med. Microbiol. Immunol. 160, 105
- CAVALLARO, J. J. and H. F. MAASSAB, 1966
Adaptation of respiratory syncytial virus to brain of suckling mice.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 121, 37
- CHANOCK, R. M. and L. FINBERG, 1957
Recovery from infants with respiratory illness of a virus related to chimpanzee coryza agent (CCA). II. Epidemiologic aspects of infiltration in infants and young children.
Am. J. Hyg. 66, 291
- CHANOCK, R. M., H. W. KIM, A. J. VARGOSKO, A. DELEVA, K. M. JOHNSON, C. CUMMING and R. H. PARROTT, 1961
Role of respiratory syncytial virus in bronchiolitis, pneumonia and minor respiratory disease.
I. Virus recovery and other observations during 1960 outbreak.
J. Am. Med. Ass. 176, 647
- CHANOCK, R. M., B. ROIZMAN and R. MYERS, 1957
Recovery from infants with respiratory illness of a virus related to chimpanzee coryza agent (CCA).

I. Isolation, properties and
characterization.

Am J. Hyg. 66, 281

COATES, H. V. and R. M.

CHANOCK, 1962

Experimental infection with re-
spiratory syncytial virus in se-
veral species of animals.

Am J. Hyg. 76, 302

COATES, H. V., B. R. FOR-

SYTH and R. M. CHANOCK, 1966

Biophysical studies of respira-
tory syncytial virus. I. Density
of respiratory syncytial virus
and associated complement-fixing
antigens in caesium chloride den-
sity gradient.

J. Bacteriol. 91, 1263

COATES, H. V., L. KENRICK

and R. M CHANOCK, 1963

Antigenic differences between
two strains of respiratory
syncytial virus.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 112, 958

DOGGETT, J. E. and D. TAY-

LOR-ROBINSON, 1965

Serological studies with respi-
ratory syncytial virus.

Arch. Ges. Virusf. 15, 601

DOGGETT, J. E., D. TAYLOR-

ROBINSON and R.G.C. GALLOP,

1968

A study of an inhibitor in bovine
serum active against respiratory
syncytial virus.

Arch. Ges. Virusf. 23, 126

- DREIZIN, R. S., T. I.
PONOMAREVA, R. I. RAPOPORT
and E. I. PETROVA, 1967 Respiratory syncytial virus of
diploid cell strains.
Acta Virol. (Praha) 11, 533
- DULBECCO, R. and H. S.
GINSBERG, 1973 Respiratory syncytial virus.
in: DAVIS, M. D., R. DULBECCO,
H. N. EISEN, and W. B. WOOD
(eds.): Microbiology, 2. ed.,
1349
- EDINGTON, N. and J. W.
JACOBS, 1970 Respiratory syncytial virus in
cattle.
Vet. Rec. 87, 762
- FOY, H. M., M. K. COONEY,
A. J. MALETZKY and J. Th.
GRAYSTON, 1973 Incidence and etiology of pneu-
monia, croup and bronchiolitis
in preschool children belonging
to a prepaid medical care group
over a four-year period.
Am. J. Epidemiol. 97, 80
- FOY, H. M., CODNEY, R.
McMAHAN and J. T. GRAYSTON,
1973 Viral and mycoplasmal pneumonia
in a prepaid medical care group
during an eight-year period.
Am. J. Epidemiol. 97, 93

FRIEDEWALD, W. T., B. R.

FORSYTH, C. B. SMITH, M. A.

GHARPURE and R. M. CHANOCK,
1968

Low-temperature-grown respiratory syncytial virus in adult volunteers.

J. Am Med. Ass. 204, 690

GARDNER, P. S. and J.

McQUILLIN, 1968

Application of immunofluorescent antibody technique in rapid diagnosis of respiratory syncytial virus infection.

Br. Med. J. 3, 340

GERNEZ-RIEUX, C., A. BRETON,

J. SAMILLE, B. GONDIER, G.

LeFEBORE et M. LELONG, 1963

Isolement du virus respiratoire syncytial (CCA de Morris) au cours d'une épidémie de manifestation respiratoire bénignes chez de prématures.

Arch. Ges. Virusf. 13, 265

GERTH, H. J., 1969

RS-Virusinfektionen.

in: GRUMBACH, A. und O. BONIN (Hsg.): Die Infektionskrankheiten des Menschen, 2. Aufl., 1456

GRIST, N. R., C. A. C. ROSS

and E. J. STOTT, 1967

Influenza, respiratory syncytial virus and pneumonia in Glasgow, 1962 - 1965.

Br. Med. J. 1, 456

- HAMBLING, M. H., 1964 Survival of the respiratory syncytial virus during storage under various conditions.
Br. J. Exp. Pathol. 45, 647
- HAMBLING, M. H., 1966 Antibody response in guinea pigs following intranasal inoculation of respiratory syncytial virus.
J. Pathol. Bacteriol. 91, 625
- HAMPARIAN, V. V., M. R.
HILLEMAN and A. KETLER,
1963 Contributions to characterization and classification of animal viruses.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 112, 1040
- HOLZEL, A., L. PARKER, W. H.
PATTERSON, L. L. R. WHITE,
K. M. THOMPSON and J. O.
TOBIN, 1963 The isolation of respiratory syncytial virus from children with acute respiratory diseases.
Lancet 1, 295
- HORNSLETH, A., 1969 Growth of respiratory syncytial virus in HEp-2 cell cultures. Difference in effect of proflavine and actinomycin-D.
Acta Pathol Microbiol. Scand. 76, 637
- INABA, Y., Y. TANAKA, T.
OMORI and M. MATUMOTO, 1970 Isolation of bovine respiratory syncytial virus.
Japan. J. Exp. Med. 40, 473

INABA, Y., Y. TANAKA, T.

OMORI and M. MATUMOTO, 1973 Physicochemical properties of bovine respiratory syncytial virus.

Japan. J. Microbiol. 17, 211

INABA, Y., Y. TANAKA, K.

SATO, H. ITO, T. OMORI and

M. MATUMOTO, 1970

Nomi virus, a virus isolated from apparently new epizootic disease of cattle.

Japan. J. Microbiol. 14, 246

ITO, H., Y. TANAKA, Y. INABA

and T. OMORI, 1973

Structure of bovine respiratory syncytial virus.

Arch. Ges. Virusf. 40, 198

JACKSON, G. G. and R. L.

MULDOON, 1973

Viruses causing common respiratory infections in man. III. Respiratory syncytial viruses and coronaviruses.

J. Inf. Dis. 128, 674

JACOBS, J. W. and N.

EDINGTON, 1971

Isolation of respiratory syncytial virus from cattle in Britain.

Vet. Rec. 88, 694

JACOBS, J. W. and N. EDING-

TON, 1975

Experimental infection of calves with respiratory syncytial virus.

Res. Vet. Science 18, 299

JOHNSON, K. M., R. M.

CHANOCK, D. RIFKIND, H. M.

KRAVETZ and V. KNIGHT, 1961 Respiratory syncytial virus infection in adult volunteers. II. Correlation of illness and clinical observations.

J. Am. Med. Ass. 176, 663

JONCAS, J., L. BERTHIAUME

and V. PAVILANIS, 1969

The structure of the respiratory syncytial virus.

Virology 38, 493

KAPIKIAN, A. Z., J. A. BELL,

F. MASTRODA, K. M. JOHNSON,

R. J. HEUBNER and R. M.

CHANOCK, 1961

Zit. nach JACKSON, G. G. und

R. L. MULDOON, 1973

KIM, H. W., J. O. ARROBIO,

C. D. BRANDT, B. C. JEFF-

RIES, G. PYLES, J. L. REID

and R. M. CHANOCK, 1973

Epidemiology of respiratory syncytial virus infection in Washington D. C. I. Importance of the virus in different respiratory tract disease syndromes and temporal distribution of infection.

Am. J. Epidemiol. 98, 216

KRAVETZ, H. M., V. KNIGHT,

R. M. CHANOCK, J. A. MORRIS,

K. M. JOHNSON, D. RIFKIND

and J. P. UTZ, 1961

Respiratory syncytial virus infection in adult volunteers.

III. Prediction of illness and clinical observations.

J. Am. Med. Ass. 176, 657

LAW, T. J. and R. N. HULL,
1968

The stabilizing effect of sucrose upon respiratory syncytial virus infectivity.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 128,
515

MANTYJARVI, R., B. BERGLUND
and A. SALMI, 1967

Precipitating antibody response in guinea pigs to respiratory syncytial virus.

Acta Virol. (Praha) 11, 467

MARQUEZ, A. and G. D. HSIUNG,
1967

Influence of glutamine on multiplication and cytopathic effect of respiratory syncytial virus.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 124, 95

MATUMOTO, M., Y. INABA, H.
KUROGI, K. SATO, T. OMORI,
Y. GOTO and O. HIROSE, 1974

Bovine respiratory syncytial virus: host range in laboratory animals and cell cultures.

Arch. Ges. Virusf. 44, 280

MAYR, A., 1963

Virusinfektionen bei Kälbern,
Tierärztl. Umsch. 18, 16

McQUILLIN, J. and P. S.
GARDNER, 1968

Rapid diagnosis of respiratory syncytial virus infection by im-

- munofluorescent antibody technique.
Br. Med. J. 1, 602
- McQUILLIN, J., P. S. GARDNER
and P. M. STURDY, 1970 The use of conjunctival-nasal
swabs in the rapid diagnosis
of respiratory syncytial virus
infection by the immunofluorescent
antibody technique.
J. Hyg. (Camb.) 68, 282
- MELNICK, J. L., 1971 Classification and nomenclature
of animal viruses.
Progr. Med. Virol. 13, 472
- MOHANTY, S. B., A. L. ING-
LING and M. G. LILLIE, 1975 Experimentally induced respiratory
syncytial viral infection in calves.
Am. J. Vet. Res. 36, 417
- MORRELL, R. E., M. I. MARKS,
R. CHAMPLIN and L. SPENCE,
1975 An outbreak of severe pneumonia
due to respiratory syncytial virus
in isolated arctic populations.
Am. J. Epidemiol. 101, 231
- MORRIS, J. A., R. E. BLOUNT
and R. E. SAVAGE, 1956 Recovery of cytopathogenic agent
from chimpanzees with coryza.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 92, 544
- MUFSON, M. A., H. D. LEVINE,
R. E. WASIL, H. E. MOCEGA-
GONZALEZ and H. E. KRAUSE,
1973 Epidemiology of respiratory syn-

- cytial virus infection among infants and children in Chicago. *Am. J. Epidemiol.* 98, 88
- NORRBY, E., H. MARUSYK and C. ORVELL, 1970
Morphogenesis of respiratory syncytial virus in a green monkey kidney cell line (VERO). *J. Virol.* 6, 237
- PACCAUD, M. F. and C. JAQUIER, 1970
A respiratory syncytial virus of bovine origin. *Arch. Ges. Virusf.* 30, 327
- PARROTT, R. H., 1963
Viral respiratory tract illness in children. *Bull. N. Y. Acad. Med.* 39, 629
- PARROTT, R. H., H. W. KIM, J. O. ARROBIO, D. S. HODES, B. R. MURPHEY, C. D. BRANDT, E. CAMARGO and R. M. CHANOCK, 1973
Epidemiology of respiratory syncytial virus infection in Washington D. C. II. Infection and disease with respect to age, immunologic status, race and sex. *Am. J. Epidemiol.* 98, 289
- PINTO, C. A., R. R. HOFF and R. G. STEWARD, 1969
Pathogenesis of and recovery from respiratory syncytial and influenza infections in ferrets. *Arch. Ges. Virusf.* 26, 225

- RECHSTEINER, J., 1969 Thermal inactivation of respiratory syncytial virus in water and hypertonic solutions.
J. Gen. Virol. 5, 397
- ROSENQUIST, B. D., 1974 Isolation of respiratory syncytial virus from calves with acute respiratory disease.
J. Inf. Dis. 130, 177
- ROSSI, C. R. and G. K. KIESEL, 1974 Serological evidence for the association of bovine respiratory syncytial virus with respiratory tract disease in Alabama cattle.
Inf. and Imm. 10, 293
- SCHINDAROV, L., A. GALABOV, N. RUNEVSKI und W. WASSILEVA, 1969 Die Vermehrung des Respiratory-Syncytial-Virus in der Zellkultur von der Lunge der Schildkröte *Testudo graeca*.
Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. 210, 313
- SHIGETA, S., Y. HINUMA, T. SUTO and N. ISHIDA, 1968 The cell to cell infection of respiratory syncytial virus in HEp-2-monolayer cultures.
J. Gen. Virol. 3, 129
- SMITH, M. H., M. L. FREY and R. E. DIERKS, 1975 Isolation, characterization and pathogenicity studies of a bovine respiratory syncytial virus.
Arch. Virol. 47, 237

- SOMMERVILLE, R. G., 1963 Respiratory syncytial virus in acute exacerbations of chronic bronchitis.
Lancet 2, 1247
- STEINBACH, G., 1973 Moderne Immunisierungsmethoden bei der Jungrinderaufzucht.
Mon.hefte Vet. Med. 28, 196
- STRAUB, O. C., 1969 Zur Übertragung viraler Antikörper durch das Kolostrum.
Tierärztl. Umsch. 24, 571
- TYRRELL, D. A. J., 1963 Discovering and defining the etiology of acute respiratory viral disease.
Am. Rev. Resp. Dis. 88, 77
- URQUHART, G. E. and A. A. M.
GIBSON, 1970 Respiratory syncytial virus infections and infant deaths.
Br. Med. J. 3, 110
- UZONOVA, A., 1970 Untersuchungen über die Vermehrung des Respiratory Syncytial - Virus mit Hilfe der Zytadsorptionstechnik.
Arch. Exp. Vet. med. 24, 227
- WELLEMANS G. et J. LEUNEN,
1971 a L'importance du virus V220/69 (virus respiratoire syncytial bovin) dans les troubles respiratoires des veaux en Belgique.
Ann. Méd. Vét. 115, 35

WELLEMANS, G. en J. LEUNEN,
1971 b

De rol van het RSB/220 virus bij
de ademhalingsstoornissen van de
runderen in België.
Vlaams Diergeneesk. Tijdschr.
40, 252

WELLEMANS, G., J. LEUNEN et
E. LUCHSINGER, 1970

Isolement d'un virus (220/69)
sérologiquement semblable au
virus respiratoire syncytial
(RSV) humain.
Ann. Méd. Vét. 114, 89

WIZIGMANN, G., 1976:

persönl. Mitteilung

WOODS, G. and V. LADWIG,
1971

unveröff. Ergebnisse zit. n.
WOODS, G. T.
Adv. Vet. Science 18, 281

WOODS, G. and M. MANSFIELD,
1968

unveröff. Ergebnisse zit. n.
WOODS, G. T.
Adv. Vet. Science 18, 281

WULFF, H., P. KIDD and H. A.
WENNER, 1964

Respiratory syncytial virus:
observations on antigenic hetero-
geneity.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 115, 240

ZAKSTELSKAYA, L. Y. A., J. D.
ALMEIDA and C. M. P. BRAD-
STREET, 1967

The morphological characterization
of respiratory syncytial virus by

a simple electron microscope
technique.

Acta Virol. (Praha) 11, 420

Herrn Prof. Dr. A. Mayr danke ich für die bereitwillige Überlassung des Themas und die freundliche Aufnahme im Institut.

Herrn Dr. G. Wизigmann gilt mein besonderer Dank für die vielen Literaturhinweise und die jederzeit gern gewährte Hilfe beim Zustandekommen dieser Arbeit.

Für die tatkräftige Unterstützung im Labor bedanke ich mich bei Frau B. Haas.

LEBENS LAUF

Geboren: am 4. August 1949 in Barßel, Kreis Cloppenburg.

Vater: Johannes Niemeyer.

Mutter: Agnes Niemeyer, geb. Niehaus.

Volksschule: von 1956 bis 1958 in Barßel;
von 1958 bis 1959 in Kattrepel, Kreis Süderdithmarschen; von 1959 bis 1960 in Brokdorf, Kreis Steinburg.

Realschule: von 1960 bis 1964 an der Mittelschule in Wilster, Kreis Steinburg.

Gymnasium: von 1964 bis 1968 an der Kaiser-Karl-Schule in Itzehoe.

Abitur: 24. April 1968.

Wartezeit: von 1968 bis 1969 als Hospitant in tierärztlicher Praxis.

Studium: von 1969 bis 1974 an der Universität München, Tiermedizin.

Tierärztliche Prüfung: 24. April 1974.

Bestallung: 16. August 1974.

